

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 61-271204

(43)Date of publication of application : 01.12.1986

(51)Int.Cl.

A61K 7/00  
A61K 9/00

(21)Application number : 60-112039

(71)Applicant : SHISEIDO CO LTD

(22)Date of filing : 27.05.1985

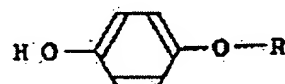
(72)Inventor : KANEKI HIROYUKI  
YAMAGUCHI MICHIIHIRO  
MACHIDA YASUHIKO  
AKIYASU AKIRA

## (54) LIPOSOME PHARMACEUTICAL

## (57)Abstract:

PURPOSE: A liposome pharmaceutical, obtained by embedding a hydroquinone glycoside on a lamella phase of a complex lipid, and incorporating sterol as a stabilizer therein and having improved stability and selective migration to the affected part of the hydroquinone glycoside and further sustained release properties.

CONSTITUTION: A liposome pharmaceutical obtained by embedding a hydroquinone glycoside expressed by the formula (R is residue, e.g. L-arabinose) in a lamella phase of a complex lipid, e.g. natural or synthetic phospholipid, at 1:0.2W0.7 weight ratio of the former to the latter, and incorporating sterol, e.g. cholesterol or  $\beta$ -sitosterol, as a stabilizer therein. A charge is desirably imparted to the lamella phase of the complex lipid for enhancing the dispersion stability of the liposome. When a negative charge is imparted, a lipid, e.g. phosphatidyl serine or dicetyl phosphate, having the negative charge is incorporated. When a positive charge is imparted, a lipid, e.g. stearylamine, having the positive charge is incorporated.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭61-271204

⑮ Int.Cl.<sup>4</sup>

A 61 K 7/00  
9/00

識別記号

庁内整理番号

7306-4C  
6742-4C

⑬ 公開 昭和61年(1986)12月1日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑭ 発明の名称 リボソーム製剤

⑯ 特 願 昭60-112039

⑰ 出 願 昭60(1985)5月27日

⑱ 発 明 者	鹿 子 木 宏 之	横浜市港北区新羽町1050番地	株式会社資生堂研究所内
⑲ 発 明 者	山 口 道 広	横浜市港北区新羽町1050番地	株式会社資生堂研究所内
⑳ 発 明 者	町 田 靖 彦	横浜市港北区新羽町1050番地	株式会社資生堂研究所内
㉑ 発 明 者	秋 保 暁	横浜市港北区新羽町1050番地	株式会社資生堂研究所内
㉒ 出 願 人	株 式 会 社 資 生 堂	東京都中央区銀座7丁目5番5号	
㉓ 代 理 人	弁 理 士 青 木 朗	外 4 名	

#### 明 細 書

#### 1. 発明の名称

リボソーム製剤

#### 2. 特許請求の範囲

1. 複合脂質のラメラ相にハイドロキノン配糖体を包埋せしめて成るリボソーム製剤。

2. 複合脂質が天然リン脂質又は合成リン脂質である特許請求の範囲第1項記載のリボソーム製剤。

3. リボソームの安定化剤としてステロールを含有してなる特許請求の範囲第1項記載のリボソーム製剤。

#### 3. 発明の詳細な説明

##### 産業上の利用分野

本発明はリボソーム製剤に関し、更に詳しくは複合脂質のラメラ相から形成されるハイドロキノン配糖体包埋リボソーム製剤に関する。

##### 従来技術

皮膚のしみなどの発生機序については不明な点もあるが、一般には、ホルモンの異常や日光からの紫

外線の刺激が原因となってメラニン色素が形成され、これが皮膚内に異常沈着するものと考えられている。このようなしみやあざの治療法には、メラニンの生成を抑制する物質、例えばビタミンC、グルタチオン、システインなどを投与もしくは塗布する方法が知られている。しかしながら、これらの化合物は安定性の面で問題があるだけでなく、美白効果の発現がきわめて緩慢であるため化粧品への配合は避けられていた。一方、ハイドロキノン誘導体は上記化合物とは異なり、効果が一般に認められている有効な治療薬であり、欧米ではハイドロキノン製剤が医薬品として用いられている。しかしながら、ハイドロキノン誘導体は一般に酸化をうけて変色しやすく、化粧品への配合には問題がある。この問題を解決するために、治療薬としてハイドロキノン配糖体を用いることが提案されている(特開昭60-56912号公報参照)。

##### 発明が解決しようとする問題点

しかしながら、前記ハイドロキノン配糖体もより一層の安定性が期待され、更に高濃度になると細胞

に対し毒性を示すことが知られている。また、ハイドロキノン誘導体は一般に感作性を示すために、ハイドロキノン配糖体の場合でも、患部以外の臓器への移行は好ましくない。

前記した事情に鑑み、本発明者らは、ハイドロキノン配糖体の安定化方法、これらの化合物を患部に選択的に移行させる方法及び除放性をもたせる方法を開発することを目的に鋭意研究を重ねた結果、ハイドロキノン配糖体を複合脂質に包埋せしめたラメラ相から形成されるリボソーム製剤が前記目的を達成することを見出し、本発明を完成したものである。

#### 問題点を解決するための手段及びその作用

即ち本発明は、複合脂質のラメラ相にハイドロキノン配糖体を包埋させて成るリボソーム製剤を提供し、かかる製剤は、ハイドロキノン配糖体の安定性および患部への選択的移行を向上させ、さらに除放性をもたせることが可能になったものである。

リボソームは複合脂質よりなるラメラ相により形成された小胞体であり、水溶性物質及び脂溶性物質のいずれでも包埋することができる。すなわち、水

溶性物質はリボソーム内の水相中に、脂溶性物質はリボソームを形成するラメラ相中に、包埋される。その他、これらの物質はラメラ相表面に化学的および物理的に吸着されることもあり、本発明では上記3通りの場合を併せ「包埋」と称する。なお、リボソームの調製法としてはボルテクスィング法 (A.D. Bangham, J. Mol. Biol., 13, 238 (1965))、ソニケーション法 (C. Huang, Biochem., 8, 344 (1969))、プレベシクル法 (H. Trauble, Neurosci. Res. Prog. Bull., 9, 273, (1971))、エタノール注入法 (S. Bantzri, Biochem. Biophys. Acta, 298, 1015 (1973))、フレンチプレス押出法 (Y. Barenholz, FEBS Lett., 99, 210 (1979))、コール酸除去法 (Y. Kagawa, J. Biol. Chem., 246, 5477 (1971))、トリトン X-100 バッチ法 (W. J. Gerritsen, Eur. J. Biochem., 85, 255 (1978))、 $Ca^{2+}$  融合法 (D. Papahadjopoulos, Biochem. Biophys. Acta, 394, 483 (1975))、エーテル注入法 (D. Deamer, Biochem. Biophys. Acta, 443, 629 (1976))、アニーリング法 (R. Lawaczeck, Biochem. Biophys. Acta, 443, 313 (1976))、凍結融解融合法

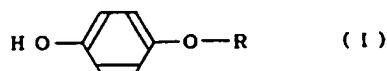
(M. Kasahara, J. Biol. Chem., 252, 7384 (1977))、W/O/W エマルジョン法 (S. Matsumoto, J. Colloid Interface Sci., 62, 149 (1977))、逆相蒸発法 (P. Szoka, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 4194 (1978)) など多くの方法が知られているが、本発明によるハイドロキノン配糖体の包埋にはいずれの調製法を用いてもよく、これらに限定されるものではない。

本発明でいう複合脂質としては、例えばレシチン、ケファリン、スフィンゴミエリン、プラスマロゲン等の天然リン脂質、ジミリスチルレシチン、ジバルミトイルレシチン、ジステアロイルレシチン等の合成リン脂質、又は天然由来のレシチンの不飽和炭素鎖を水素により飽和とした水添レシチン等が挙げられる。又、リボソームの分散安定性を高めるために複合脂質ラメラ相に荷電を持たせることが望まれる。この場合、負荷電を持たせるときはホスファチジルセリン、ジセチルホスフェートなどの負荷電を持つ脂質を、正荷電を持たせるときはステアリルアミンなどの正荷電を持つ脂質を配合すればよい。

本発明に従えば、ハイドロキノン配糖体を包埋せ

しめて成る本リボソーム製剤の安定化のために、ステロールを配合することができる。かかるステロールとしては例えばコレステロール、 $\beta$ -シトステロール、スチグマステロール、カンベステロール又は植物材料から抽出されるステロールの混合物が挙げられる。

本発明でいうハイドロキノン配糖体は一般に下記式 (I) で表わされる化合物である。



式 (I) において、R は L-アラビノース、D-アラビノース、D-キシロース、D-リボース、L-キシロース、L-リキソース、D-リブロース等の五炭糖の残基、D-グルコース、D-ガラクトース、L-ガラクトース、D-マンノース、D-タロース、D-フルクトース、L-ソルボース、D-タガトース、D-ブシコース等の六炭糖の残基、D-グルコサミン、D-ガラクトサミン、シアル酸、アミノウロン酸、ムラミン酸等のアミノ糖の残基、D-グルクロン酸、D-ガラクトロン酸、D-

マンヌロン酸、L-イズロン酸、L-グルロン酸等のウロン酸の残基又はそれらのメチル化物等のハイドロキノン配糖体を示し、配糖体の中では特にD-グルコースが $\beta$ -結合したハイドロキノン $\beta$ -D-グルコピラノシド（一般名：アルブチン、以下アルブチンという）が最も好ましい。

本発明に係るリボソーム製剤中の配合成分の配合量には特に限定はないが、好ましくはリボソームを形成し得る複合リン脂質1に対し、0.2～0.7（重量比）の配合比である。これを超える配合比では、包埋しきれない配合成分が分散媒である外水相に存在することになり好ましくない。

かかるハイドロキノン配糖体は以下のようにして製造できる。例えばハイドロキノンとアセチル化糖をオシキ塩化リン、硫酸又は塩化チオニルなどを触媒として適当な溶媒中で数時間煮沸し、得られた反応生成物を脱アセチル化することによって容易に製造することができる。またアルブチンは市販されており、かかる市販品を本発明において使用することができる。

次に本発明の一層の理解のために、実施例をあげて更に詳細に説明するが本発明をこれらの実施例によって限定するものでないことはいうまでもない。

#### 実施例 1

50mlナス型フラスコ中でジパルミトイルレシチン0.1g及びジセチルホスフェート4mgをクロロホルム3mlに溶解した後、ロータリーエバポレーターを用いてクロロホルムを留去し、フラスコ底壁に複合脂質膜を得た。これを真空デシケータ中で2時間乾燥しクロロホルムを完全に留去した。これにアルブチン8.16%水溶液10mlを加え、50℃で30分水和させた後、ボルテックスミキサーにより激しく振とうすることによりフラスコ底壁に形成した上記複合脂質膜を完全にアルブチン水溶液に分散せしめてリボソームを形成させ、リボソーム分散液とした。分散液中でリボソームに未保持のアルブチンを透析により除去することにより、アルブチン包埋リボソームを得た。本法により仕込み量の5.6%のアルブチンが包埋された。

#### 実施例 2

本発明のリボソーム製剤はリボソームの形態を破壊しない成分であれば、通常の医薬品、化粧品成分を配合できる。

#### 発明の効果

本発明によれば、リボソームはin vitro およびin vivoにおいて安定であり、さらにリボソーム形成複合脂質として用いられるリン脂質は生体に対する安全性が高いため、これにハイドロキノン配糖体を包埋することにより患部以外へのハイドロキノン配糖体の移行を防ぐことが可能となり、ハイドロキノン配糖体の持つ感作性の低減が達成できる。

本発明によれば、また、先に述べたリボソームのin vitro およびin vivoにおける安定性により、ハイドロキノン配糖体への生体物質等の他物質の接触およびpHの影響を防ぐことが可能となり、ハイドロキノン配糖体の安定性の増加が達成できる。

本発明によれば、更に、リボソームに包埋されたハイドロキノン配糖体は除放化されるため、長期にわたる薬効の発現が達成できる。

#### 実施例

50mlナス型フラスコ中で卵黄レシチン70mg、コレステロール30mg及びジセチルホスフェート4mgをジエチルエーテル3mlに溶解した後、アルブチン8.16%水溶液1mlを加え、これに超音波を照射することによりW/Oエマルジョンを得た。これをロータリーエバポレーターを用いてジエチルエーテルを留去してゲル化させ、軽く振とうした後、残ったジエチルエーテルを留去して濃厚なリボソーム分散液を得た。これを適度に希釈することにより、アルブチン包埋リボソームを得た。本法により仕込み量の40.0%のアルブチンが包埋された。

#### 実施例 3

実施例1に従って、アルブチン0.3%を内包したリボソーム製剤を調製した。

#### 比較例 1

実施例3と同濃度（0.3%）のアルブチン水溶液を調製した。

実施例3で得たアルブチン内包のリボソーム製剤と、比較例1のアルブチンの単純水溶液との美白効果を培養メラノーマ産生抑制能から評価した。抑制

能は、培養細胞100万個あたりの培養3日後のメラニン量をOD 400nmの吸光度変化から評価した。結果を表1に示す。

表 1

	培養3日後 の総細胞数	細胞100万個当 りのメラニン量
実施例3	59.1万個	0.07
比較例1	58.9万個	0.11

表1の結果から明らかなように、実施例3と比較例1では総細胞数には差が見られないが、メラニン産生の抑制能、即ち美白作用は本発明によるリボソーム化アルブチン製剤の方が優れている。

実施例4

実施例2に従って、1%のアルブチンを内包したリボソーム製剤を調製した。

比較例2

実施例4と同濃度(1%)のアルブチン水溶液を調製した。

実施例4と比較例2の経時による光安定性(黄変の度合)を試験した結果を表2に示す。黄変の評価は、ガラス容器に入れた試料の室温条件に放置した際の外観を下記の評価基準で判定した。

○：黄変が全くみられない

△：わずかに黄変している

×：著しい黄変が生じた

表 2

	経 時				
	直後	3日後	1週間後	2週間後	1ヶ月後
実施例4	○	○	○	○	△
比較例2	○	○	△	×	×

表2の結果から明らかなように、リボソーム製剤にすることにより、アルブチンの光安定性は著しく向上した。尚、アルブチンの黄変は、分子内のヒドロキノン骨格の酸化によることを確認しており、リボソーム化はこの酸化を抑制する作用を示すものと考えられる。